

3
4
5 IZVEŠTAJ O OCENI ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

6
7 I PODACI O KOMISIJI:

8
9 1. Datum i naziv organa koji je imenovao komisiju: 21. oktobar 2015. godine, 159.
10 Sednica Nastavno-naučnog veća Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

11
12 2. Sastav komisije sa naznakom imena i prezimena svakog člana, zvanja, naziva uže
13 naučne oblasti za koju je izabran u zvanje, godinom izbora u zvanje i naziv fakulteta,
14 ustanove u kojoj je član komisije zaposlen:

15
16 1. Danijela Kirovski, vanredni profesor, fiziologija, 2011, Fakultet veterinarske medicine
17 Univerziteta u Beogradu

18 2. Ožbalt Podpečan, docent, bolesti i zdravstvena zaštita životinja, 2010, Veterinarski
19 fakultet Univerziteta u Ljubljani

20 3. Milutin Đorđević, vanredni profesor, zoohigijena, 2011, Fakultet veterinarske
21 medicine Univerziteta u Beogradu.

22 4. Ivan Vujanac, docent, bolesti papkara, 2012, Fakultet veterinarske medicine
23 Univerziteta u Beogradu.

24 5. Đorđe Savić, docent, 2012, fiziologija, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Banja Luci

25
26 II PODACI O KANDIDATU:

27
28 1. Ime, ime jednog roditelja, prezime: Petar, Aleksandar, Dodovski

29
30 2. Datum rođenja, opština, Republika: 12.7.1974., Bitola, Republika Makedonija

31
32 3. Datum odbrane, mesto i naziv magistarske teze*:

33
34 4. Naučna oblast iz koje je stečeno akademsko zvanje magistra nauka*:

35
36 III NASLOV DOKTORSKE DISERTACIJE: Hormonalni i metabolički status teladi
37 neonatalnog perioda poreklom od primiparnih majki tretiranih sa propiltiouracilom tokom
38 graviditeta

39
40 IV PREGLED DOKTORSKE DISERTACIJE (navesti broja strana poglavlja, slika, šema,
41 grafikona i sl.):

42 Doktorska disertacija kanidata Petra Dodvskog napisana je na 231 strane i sadrži
43 sledeća poglavlja: Uvod (2 strane), pregled literature (69 strana), Cilj i i zadaci istraživanja (2
44 strane), Materijal i metode rada (6 strana), Rezultati istraživanja (46 strana), Diskusija (29
45 strana), Zaključci (2 strane), Literatura (74 strane). Poslednje 4 strane su biografija i izjave. U
46 disertaciji se nalazi 46 tabela (1 tabela u poglavlju Materijal i metode i 45 tabela u poglavlju
47 Rezultati) i 6 slika (6 slika u poglavlju u poglavlju Rezultati). Disertacija sadrži kratak sadržaj
48 na srpskom i engleskom jeziku.

49 V VREDNOVANJE POJEDINIH DELOVA DOKTORSKE DISERTACIJE (dati
50 kratak opis svakog poglavlja disertacije: uvoda, pregleda literature, cilja i zadataka
51 istraživanja, materijal i metoda, rezultata, diskusije, spiska referenci):

52
53 U poglavlju **Uvod**, kanidat daje kratak pregled značaja funkcije tireoidne osovine za
54 vitalnost neonatalne teladi i napominje da, zbog nedostatka literaturnih podataka o uticaju
55 neonatalne hipotireoze na endokrini i metabolički status novorođene teladi, postoji naučna

1 opravdanost za sprovođenje istraživanja koje se odnosi na uticaj hipotireoze teladi,
2 indukovane davanjem antitireoidnih supstanci njihovim majkama tokom kasnog graviditeta, na
3 endokrini i metabolički status novorođenčadi, odnosno njihovu sposobnost da se adaptiraju
4 na ekstrauterine uslove života.

5
6 U poglavlju **Pregled literature**, kanidat daje pregled rezultata većeg broja istraživača
7 koji su od važnosti za datu problematiku. Ovo poglavlje je, logičnim redosledom, podeljeno u
8 osam podpoglavlja. U prvom podpoglavlju pod nazivom Tireoidna osovina i regulacija njene
9 aktivnosti dat je opšti prikaz komponenata tireoidne osovine. U drugom, trećem i četvrtom
10 podpoglavlju kanidat opisuje strukturu i fiziološki značaj tireotropin osobađajućeg,
11 tireostmulirajućeg i tireoidnih hormona, pojedinačno u svakom podpoglavlju. U petom
12 podpoglavlju pod nazivom Specifičnosti tireoidne osovine teladi tokom neonatalnog perioda
13 života, kanidat naglašava da je aktivnost tireoidne osovine tokom neonatalnog perioda od
14 ključnog značaja za adaptaciju novorođene životinje na ekstrauterinu sredinu, uzimajući u
15 obzir da je mehanizam adaptacije veoma zavisian od stepena prenatalnog sazrevanja
16 tireoidne osovine. Ispitivanja stepena sazrevanja tireoidne osovine kod različitih vrsta
17 životinja, uključujući i goveda, ukazuju na to da se novorođenčad rađa sa nepotpuno
18 razvijenom tireoidnom osovinom, iako aktivnost štitaste žlezde fetusa započinje još tokom
19 ranog gestacionog perioda. Tokom ranog neonatalnog perioda života aktivnost tireoidne
20 osovine je veoma značajna, pre svega zbog potrebe za adaptacijom na niže temperature u
21 ekstrauterinoj sredini. Koncentracije tireoidnih hormona se tokom prvih nekoliko sati nakon
22 rađanja povećavaju i značajno su veće u odnosu na odrasle jedinke, da bi se njihove
23 koncentracije značajno smanjile u uzrastu od sedam dana. Povećanje koncentracija tireoidnih
24 hormona predstavlja prirodni zaštitni mehanizam za očuvanje života teladi nakon suočavanja
25 sa novom sredinom. Naime, adaptacioni mehanizmi omogućavaju zadovoljavanje povećanih
26 potreba za energijom i toplotom, neophodnih za aktivnost teleta i održavanje homeostaze
27 metabolizma i telesne temperature. U šestom podpoglavlju pod nazivom Uticaj tireoidne
28 osovine na metabolički i endokrini status teladi kanidat je opisao povezanost koncentracija
29 tireoidnih hormona sa drugim hormonima, kao i pojedinim biohemijskim parametrima krvi. U
30 osmom podpoglavlju, pod nazivom Smanjene funkcije tireoidee-hipotireoze, kandidat navodi
31 učestalost pojavljivanja hipotireoza pri uzgoju teladi ukazujući na uzroke hipotireoza. U istom
32 podpoglavlju kandidat opisuje mogućnosti indukcije hipotireoze i značaj ispitivanja tireoidne
33 osovine u uslovima indukovane hipotireoze. Posednji deo pregleda literature odnosi se na
34 opis supstanci koje mogu da inhibiraju sintezu, sekreciju i aktivnost tireoidnih hormona.
35 Kanidat vrlo detaljno opisuje efekat propiltiouracila (PTU), antitireoidne supstance koju je
36 izabrao za indukciju hipotireoze kod jedinki korištenih u ovoj disertaciji.

37
38 **Cilj istraživanja** u ovoj doktorskoj disertaciji bio je ispitivanje metaboličkog i
39 endokrinog statusa neonatalne teladi kod koje je hipotireoidno stanje indukovano davanjem
40 PTU majkama tokom završne faze graviditeta. Radi postizanja cilja, postavljeni su sledeći
41 **istraživački zadaci**: (1) Odabrana su novorođena telad poreklom od majki koje su tokom
42 završne faze graviditeta tretirane sa PTU (ogledna grupa) i novorođena telad poreklom od
43 majki koje nisu tretirane sa PTU (kontrolna grupa); (2) sva telad su individualno napajana
44 kolostrumom i mlekom svojih majki tokom celog perioda ispitivanja i praćena je njihova
45 telesna masa; (3) Uzeti su uzorci tkiva placente krava majki i tkiva tireoidee teladi; (4) uzeti su
46 uzorci krvi teladi, svakodnevno od dana rođenja do sedmog dana života; (5) određene su
47 koncentracije TSH, T_4 i T_3 u svim uzetim uzorcima krvi; (6) određena je koncentracija IGF-I u
48 uzorcima krvi uzetim 0., 1., 2., 3., 4. i 7. dana postnatalnog života; (6) određene su relativne
49 zastupljenosti IGFBP-2 i IGFBP-3 u uzorcima krvi uzetim 0., 1., 2., 3., 4. i 7. dana
50 postnatalnog života; (7) određene su koncentracije glukoze, insulina i kortizola u uzorcima
51 krvi uzetim 0., 1., 2., 3., 4. i 7. dana postnatalnog života; (8) određene su koncentracije
52 odabranih biohemijskih parametara (ukupni proteini, albumini, globulini, trigliceridi i holesterol)
53 u svim uzetim uzorcima krvi; (9) određene su ekspresije iRNK za pojedine tipove dejodinaza
54 u uzorcima tkiva placente i tkiva tireoidee teladi; (10) izvršena je histološka analiza uzoraka
55 tkiva tireoidee ogledne i kontrolne grupe teladi.

56
57 U poglavlju **Materijal i metode** kanidat je detaljno opisao postavku eksperimenta.
58 Eksperimentalni deo rada izveden je na 20 teladi holštajn-frizijske rase. Prosečna telesna
59 masa teladi na rođenju bila je $38,5 \pm 3,2$ kg. Nakon teljenja, novorođena telad su provela
60 najviše dva sata uz svoje majke i bilo im je onemogućeno sisanje. Zatim su transportovana u

1 susedni objekat, gde su držana do kraja perioda ispitivanja. Po rođenju, telad su svrstana u
2 dve grupe. Prva grupa teladi (ogledna grupa, n = 10) poticala je od primiparnih majki koje su
3 počevši od 20. dana pre očekivanog termina teljenja do dana teljenja svakodnevno dobijale
4 PTU (Sigma-Aldrich Chemical Company, Nemačka) u dozi od 4 mg/kg telesne mase. PTU je
5 davan specijalnom špatulom za peroralno davanje lekova, pomešan sa 25ml maltoznog
6 sirupa (Maltozni sirup 40, A.D. Industrija skroba „Jabuka“, Pančevo, Srbija). Druga grupa
7 teladi (kontrolna grupa, n = 10) poticala je od primiparnih majki koje su od 20. dana pre
8 očekivanog termina teljenja do dana teljenja svakodnevno peroralno primale po 25 ml
9 maltoznog sirupa. Napajane teladi vršeno je kolostrumom i mlekom njihovih majki tokom prvih
10 sedam dana nakon teljenja. Prvo napajanje kolostrumom u količini od 1,5 litar izvršeno je 2
11 sata nakon teljenja a zatim količinama od 2 litra u sledeća dva napajanja 12 i 24 sata posle,
12 odnosno 14. i 26. sata ekstrauterino žvota teladi. Nakon toga, telad su napajana u
13 razmacima od po 12 sati, pri čemu su u pogledu količine mleko unosila po volji. Uzorci krvi su
14 uzimani punkcijom *v. jugularis* neposredno nakon teljenja (pre unosa kolostruma), a zatim
15 svakodnevno tokom prvih sedam dana neonatalnog žvota, nakon čega je izdvajani krvni
16 serum koji je skladišten na temperaturi od -20°C, sve do izvođenja analiza. Uzorci tkiva
17 placente uzimani su neposredno nakon porođaja. Nakon uzimanja, uzorci tkiva placente su
18 oprani sa TBS (Tris Buffered Saline) rastvorom, temperiranim na 4°C, kako bi se uklonila krv
19 i druge strane supstance. Potom su odvojeni maternalni (karunkuli) i fetalni (kotiledoni) deo
20 placente, te vezivno tkivo, da bi se dobili mali uzorci tkiva placente, mase 5 grama koji su
21 odmah zamrzavani u tečnom azotu i čuvani na -80°C do izvođenja analiza. U periodu od
22 sedmog do desetog dana žvota teladi izvršeno je uzorkovanje tkiva tireoidee uginule teladi, u
23 cilju histološke analize tkiva tireoidee i određivanja ekspresije iRNK za pojedine tipove
24 dejodinaza. Uzorci namenjeni za određivanje ekspresije iRNK za pojedine tipove dejodinaza
25 zamrzavani su odmah nakon uzimanja u tečnom azotu, a potom čuvani na -80°C do
26 izvođenja analiza. Uzorci namenjeni za histološku analizu tkiva tireoidee konzervisani su u
27 10% puferizovanom rastvoru formalina i tako čuvani do analize. Koncentracije tireoidnih
28 hormona i TSH određivane su u svim uzetim uzorcima krvi, dok su koncentracije insulina,
29 kortizola IGF-I i IGF-vezujućih proteina (IGFBP-2 i IGFBP -3) određivane u uzorcima krvi
30 uzetim 0.,1.,2.,3.,4., i 7. dana postnatalnog žvota teladi. Relativna zastupljenost IGF-
31 vezujućih proteina određena je elektroforetskim razdvajanjem proteina i imunoblot metodom.
32 U svim uzorcima krvi, dodatno, određivani su izabrani biohemijski parametri krvi (ukupni
33 proteini, globulini, albumini, trigliceridi, holesterol i glukoza).

34 Za određivanje ekspresije iRNK za pojedine tipove dejodinaza u uzorcima tkiva placente i
35 tireoidee korišćen je PCR metod, nakon ekstrakcije RNK i reverzne transkripcije. Ukupna
36 količina RNK izolovana je Trizol[®] reagensom (Invitrogen, Life Technologies, SAD). Tkivo je
37 homogenizovano u Potter-Elvehjem staklo-teflonskom homogenizatoru sa Trizol[®] reagensom
38 u odnosu 1 ml reagens na 100 mg tkiva. Dobijeni homogenati su inkubirani 5 minuta na
39 30°C da bi nukleoproteinski kompleksi potpuno disosovali. U svaki homogenat je dodavano
40 0,2 hloroforma nakon čega je sledilo intenzivno mešanje u trajanju od 15 sekundi. Zatim su
41 homogenati inkubirani 3 minuta na 30°C, a potom centrifugirani 15 minuta na 12,000g na
42 temperaturi od 4°C. Nakon centrifugiranja izdvojena je vodena faza u koja se nalazio RNK i
43 pomešao se sa 0,5 ml izopropanola. Nakon toga je usledila inkubacija smeše u periodu od 10
44 minuta na 30°C a onda centrifugiranje na 12,000g 10 minuta na 4°C. Nakon centrifugiranja
45 talog se resuspendovao u jednoj zapremini 75% etanola i centrifugirao na 7500g, 5 minuta na
46 4°C. Dobijeni talog je osušen na vazduhu i rastvoren u 100µl 0,1% DEPC vode. Za sinteza
47 cDNK iz RNK korišćen je reverzni transkripcioni kit (Applied Biosystems, Life Technologies,
48 SAD). Od ukune količine RNK, 2µl inkubirano je sa reverznom transkriptazom MultiScribe (50
49 U/ µl), u prisustvu 2 µl Random Prajmera, 0,8 µl 100 mM dNTP Mix, 1 µl RN-aza inhibitora i
50 10xRT pufera u ukupnoj količini od 20 µl. Dobijene cDNK su potom čuvane na -
51 20°C. Specifični prajmeri, prikazani u Tabeli 1., kreirani su da selektivno umnože iRNK za
52 DIO1, DIO2, DIO3 i ATP5B, subjedinicu mitohondrijalne ATP sintetaze, korištene kao ciljani
53 gen. Za svaki set prajmera sprovedeni su kontrolni eksperimenti, kako bi se definisao linearni
54 raspon za PCR umnožavanje. Kao dodatne kontrole, za svaku reakciju su sprovedene i slepe
55 PCR probe, bez uzoraka.

56
57
58
59
60 **Tabela 1.** Lista prajmera upotrebljenih u PCR reakciji

Ime	Orijentacija	Prajmer sekvenca	Veličina (bp)
DIO1	For	5'-ggt tcc gta gca gat ttt ctc atc-3'	273
	Rev	5'-ggt cca agg acc agg ttt acc c-3'	
DIO2	For	5'-cca cct tct gga ctt tgc ca-3'	134
	Rev	5'-gga agt cag cca cgg atg ag-3'	
DIO3	For	5'-tca ctc cct gag gct ctg-3'	120
	Rev	5'-ccc agt aaa tgc tta cgg atg-3'	
ATP5B	For	5'-cat cgt ggc ggt cat tgg-3'	148
	Rev	5'-aat ggt cct tac tgt gct ctc-3'	

1
2 Za izvođenje reakcije, odgovarajuća razređenja uzoraka cDNK su pomešana sa PCR
3 puferom koji je sadržao 0,2 mM dNTPs, 2 mM MgCl₂, 0,25 μM prajmera za DIO1, DIO2, DIO3
4 i ATP5B, 2 jedinice Taq polimeraze u ukupnoj zapremini od 25 μl. cDNK su umnožene u
5 Eppendorf Mastercycler u 28 ciklusa u sledećim uslovima: denaturacija 94°C/45 s; hlađenje
6 55°C/1 min (DIO1, DIO2), 61°C/1 min (DIO3) odnosno 58°C/1 min (ATP5B); ekstenzija
7 72°C/1 min; finalna ekstenzija 72°C/8 min. PCR proizvodi su potom podvrgnuti elektroforezi
8 na 2% agarozu gelu zajedno sa MassRuler Low Range DNA Ladder, 50-1500 bp (Fermentas,
9 SAD), i vizualizovani pod UV svetlosti uz pomoć etidijum bromida. Intenzitet PCR proizvoda
10 meren je fluorescentnom digitizacijom uz pomoć aparata GelDoc 1000 (BioRad, Hercules,
11 CA). Kvantifikacija RT-PCR produkata izvršena je denzitometrijski, uz pomoć ImageJ softvera
12 (National Institutes of Health, SAD), a intenzitet dobijenih traka je izražen u arbitrarnim
13 jedinicama (Arbitrary Unit, AU). Arbitrarne jedinice za produkte amplifikacije DIO1, DIO2 i
14 DIO3 su podeljene prema produktu amplifikacije gena ATP5B upotrebljenog u istoj PCR
15 reakciji. Za svaki gen su urađene najmanje tri nezavisne analize.

16 Deo isečka tkiva tireoidee za histološke analize fiksiran je u 10% neutralnom
17 puferizovanom rastvoru formalina. Nakon toga tkivo je tretirano u automatskom tkivnom
18 procesoru (Leica, Nemačka) pri čemu je izvršena dehidracija i impregnacija tkiva u parafinu.
19 Nakon kalupenja u parafinu, tkivo je uz pomoć mikrotoma isečeno na listiće debljine 5 μm.
20 Histološki preparati obojeni su sa hematoksilin-eozinom i specijalnim histološkim bojenjem,
21 koristeći Masson-Goldener's trichrome tehniku.

22 Statistička obrada podataka izvršena je uz pomoć softverskog paketa STATISTICA 6
23 (StatSoft, SAD). Rezultati istraživanja prikazani su uz pomoć parametara deskriptivne
24 statistike, tabelarno i grafički. Statistička značajnost razlika vrednosti ispitivanih parametara
25 (p) između ogleadne i kontrolne grupe teladi testirana je uz pomoć Studentovog "t" testa. Kao
26 statistički značajne uzete su razlike na nivou od $p < 0,05$, $p < 0,01$ i $p < 0,001$.

27
28 **Rezultati** su pokazali da je koncentracija T₃ u krvnom serumu teladi kontrolne grupe
29 bila statistički značajno viša nego kod ogleadne grupe na dan teljenja ($p < 0,001$) i prvog dana
30 neonatalnog života ($p < 0,01$), a statistički značajno niža u periodu od četvrtog do šestog ($p < 0,001$,
31 pojedinačno) i sedmog dana neonatalnog života ($p < 0,05$). Drugog i trećeg dana
32 neonatalnog života nije bilo značajne razlike u koncentraciji T₃ između dve ispitivane grupe
33 teladi. Koncentracija T₄ u krvnom serumu teladi kontrolne grupe u odnosu na ogleadnu grupu
34 je bila statistički značajno viša tokom prva dva dana postnatalnog života ($p < 0,001$,
35 pojedinačno), a statistički značajno niža četvrtog ($p < 0,01$) petog i šestog dana neonatalnog
36 života ($p < 0,001$, pojedinačno), dok je sedmog dana razlika bila na granici značajnosti ($p = 0,06$).
37 Trećeg dana neonatalnog života nije bilo značajne razlike u koncentraciji T₄ između
38 dve ispitivane grupe teladi. Koncentracija TSH u krvnom serumu teladi kontrolne grupe je bila
39 statistički značajno niža u odnosu na ogleadnu grupu na dan rođenja i tokom prva tri dana ($p < 0,001$
40 za 0. i 1., $p < 0,01$ za drugi i $p < 0,001$ za treći dan neonatalnog života) dok je bila
41 statistički značajno viša petog ($p < 0,05$) i šestog dana neonatalnog života ($p < 0,05$). Nije bilo
42 značajne razlike između grupa u vrednosti koncentracija TSH četvrtog i sedmog dana
43 postnatalnog života. Koncentracija insulina u krvnom serumu kontrolne grupe bila je statistički
44 značajno viša poređenjem sa vrednostima koncentracija ogleadne grupe na dan rađanja i
45 prvog ($p < 0,001$, pojedinačno), kao i drugog dana neonatalnog života ($p < 0,05$). Počevši od
46 trećeg dana do kraja ispitivanog perioda, nije ustanovljena statistički značajna razlika u
47 vrednosti koncentracija insulina između kontrolne i ogleadne grupe. Koncentracija glukoze je u
48 krvnom serumu ogleadne grupe bila niža u odnosu na vrednosti koncentracija kontrolne grupe
49 tokom čitavog perioda ispitivanja. Vrednosti koncentracije glukoze između grupe u prva tri
50 dana su se statistički značajno razlikovale ($p < 0,01$ za 0. dan, $p < 0,001$, pojedinačno za 1. i

1 2. dan i $p < 0,01$ za 3. dan) dok u periodu od četvrtog do sedmog dana nije ustanovljena
2 statistički značajna razlika. Koncentracije kortizola u krvnom serumu ogleadne grupe teladi su
3 tokom čitavog perioda ispitivanja bile statistički značajno veće ($p < 0,001$, pojedinačno, za
4 periode od 0. do 4. dana i $p < 0,01$ za 7. dan) u odnosu na vrednosti ustanovljene kod
5 kontrolne grupe teladi. Koncentracije IGF-I u krvnom serumu teladi ogleadne grupe bile su
6 statistički značajno niže u odnosu na kontrolnu grupu tokom čitavog perioda ispitivanja ($p <$
7 $0,001$, pojedinačno, za 0., 3. i 4. dan i $p < 0,01$, pojedinačno, za 1. i 2. dan), izuzev sedmog
8 dana nakon teljenja, kada je statistička značajnost razlika izostala, iako su numeričke
9 vrednosti i dalje bile niže u ogleadnoj grupi teladi. Relativna zastupljenost IGFBP-2 u krvnom
10 serumu teladi ogleadne grupe je bila statistički značajno niža u poređenju sa kontrolnom
11 grupom tokom čitavog perioda ispitivanja ($p < 0,01$ za 0. dan i $p < 0,001$, pojedinačno, za
12 period od 1. do 4. dana), izuzev sedmog dana neonatalnog života, iako je i u tom periodu
13 apsolutna numerička vrednost bila niža u odnosu na kontrolnu grupu teladi. Relativna
14 zastupljenost IGFBP-3 u serumu ogleadne grupe teladi bila je statistički značajno niža tokom
15 prva četiri dana ispitivanog perioda ($p < 0,001$, pojedinačno) u odnosu na relativne
16 zastupljenosti IGFBP-3 kod kontrolne grupe. Razlike u vrednostima relativne zastupljenosti
17 IGFBP-3 nisu bile statistički značajne sedmog dana neonatalnog života i pored toga što je
18 numerička vrednost bila manja kod ogleadne u odnosu na kontrolnu grupu. Koncentracija
19 ukupnih proteina u krvnom serumu teladi kontrolne i ogleadne grupe nije se statistički značajno
20 razlikovala do drugog dana nakon rađanja, iako su koncentracije kod ogleadne grupe tokom
21 prva dva dana života bile numerički niže nego kod kontrolne grupe. Od trećeg do sedmog
22 dana, kod teladi ogleadne grupe ustanovljene su statistički značajno niže koncentracije
23 ukupnih proteina ($p < 0,05$, pojedinačno, za 3., 4., 6. i 7 dan i $p < 0,01$ za 5. dan neonatalnog
24 života). Koncentracije globulina u krvnom serumu teladi ogleadne grupe u svim periodima
25 ispitivanja, izuzev nultog dana, bile su statistički značajno niže u odnosu na vrednosti
26 određene kod kontrolne grupe u istim periodima ispitivanja ($p < 0,05$, pojedinačno, za sve
27 dane ispitivanja, izuzev $p < 0,01$ za 3. dan neonatalnog života). Razlika u koncentracijama
28 globulina određenim šestog dana između dve grupe teladi bila je na granici statističke
29 značajnosti ($p = 0,06$). Tokom prva četiri dana, kao i sedmog dana ispitivanog perioda nije
30 ustanovljena statistički značajna razlika između koncentracija albumina ustanovljenih kod
31 kontrolne i ogleadne grupe teladi. Petog i šestog dana neonatalnog života je koncentracija
32 albumina bila statistički značajno viša kod kontrolne u odnosu na ogleadnu grupu ($p < 0,05$,
33 pojedinačno). Koncentracije triglicerida u serumu teladi kontrolne grupe bile su statistički
34 značajno niže tokom čitavog perioda istraživanja u poređenju sa koncentracijama
35 ustanovljenim kod ogleadne grupe teladi ($p < 0,001$, pojedinačno, za sve dane izuzev $p < 0,01$
36 za 3., 4., 6. i 7. dan neonatalnog života). Koncentracije holesterola u krvi teladi kontrolne
37 grupe su bile statistički značajno više u odnosu na ogleadnu grupu teladi tokom čitavog
38 perioda ispitivanja ($p < 0,01$, pojedinačno, za 0., 2. i 6. dan, $p < 0,05$ za 1. i $p < 0,001$,
39 pojedinačno, za 4. i 5. dan neonatalnog života), izuzev trećeg i sedmog dana nakon teljenja,
40 kada razlika nije bila statistički značajna, iako su numeričke vrednosti bile više kod kontrolne
41 grupe teladi. Ekspresija iRNK za sva tri tipa dejodinaza (DIO1, DIO2 i DIO3) u uzorcima tkiva
42 placente majki kontrolne grupe teladi bila je statistički značajno niža ($p < 0,05$, $p < 0,001$ i $p <$
43 $0,01$, pojedinačno) u odnosu na majke ogleadne grupe teladi. Ta razlika je bila najizraženija
44 kod ekspresije iRNK za DIO2, a najmanje izražena kod ekspresije iRNK za DIO1. Ekspresija
45 iRNK za DIO1 i DIO2 ustanovljena je u uzorcima tkiva tireoidee kod teladi obe grupe teladi,
46 dok iRNK za DIO3 nije bila ekspimirana u ispitanim uzorcima tireoidee ni kod jedne grupe
47 teladi. Histološkom analizom uzoraka tkiva tireoidee uočeno je da su u tkivu tireoidee
48 kontrolne grupe teladi postojali jasno izraženi i krupni folikuli, oivičeni prizmatičnim epitelom, i
49 ispunjeni značajnom količinom koloida, koji su se jasno bojili acidofilnim histološkim bojama.
50 U stromi žlezde se jasno uočavaju fibroblasti, kolagena vlakna i veći broj krvnih sudova. U
51 tkivu tireoidee teladi ogleadne grupe postojao je veliki broj manjih folikula, koji su se mogli
52 okarakterisati kao mikrofolikuli sa malim lumenom, zatim određeni broj folikula bez lumena,
53 kao i manji broj neaktivnih makrofolikula obloženih prizmatičnim ili skvamoznim epitelom, koji
54 su bili ispunjeni manjom količinom bazofilnog koloida ili su bili bez prisustva koloida. Između
55 folikula se moglo uočiti vezivno tkivo sa manjim brojem krvnih sudova. U svega nekoliko
56 makrofolikula bila je prisutna slabo izražena vakuolizacija koloida. Ukupna histološka slika u
57 ispitanim uzorcima tkiva tireoidee teladi ogleadne grupe ukazivala je na hiperplaziju žlezde,
58 odnosno strumozne promene, na šta je posebno ukazivao veliki broj sitnih folikula.
59

1 U poglavlju **Diskusija**, kandidat je razmotrio dobijene rezultate sa aspekta uticaja
2 hipotireoze na endokrini i metabolički status teladi. U okviru postojećih saznanja kandidat je
3 uporedio dobijene podatke sa dostupnim podacima iz domaće i strane literature, te izneo
4 tumačenje uočenih trendova kretanja pojedinih ispitivanih parametara i njihovog značaja za
5 procenu endokrinog i metaboličkog statusa hipotireoidne neonatalne teladi.

6 7 **VI ZAKLJUČCI ISTRAŽIVANJA (navesti zaključke koji su prikazani u doktorskoj** 8 **disertaciji):**

9 Na osnovu dobijenih rezultata i njihovog tumačenja kandidat je izveo sledeće zaključke:

- 10
11 1. Tretman primiparnih majki sa PTU tokom poslednje faze graviditeta izaziva
12 hipotireozu neonatalnih teladi s obzirom da su tokom prvih dana neonatalnog
13 života koncentracije tireoidnih hormona bile statistički značajno niže, a
14 koncentracije TSH značajno više kod teladi poreklom od tretiranih majki u
15 odnosu na telad čije majke nisu bile tretirane sa PTU. Dodatno je, histološkom
16 analizom, kod teladi poreklom od tretiranih majki utvrđena hiperplazija tireoidne
17 žlezde.
- 18 2. Ekspresija iRNK za sva tri tipa ispitivanih dejodinaza u tkivu placente tretiranih
19 primiparnih majki je bila značajno smanjena u odnosu na netretirane majke,
20 ukazujući da je hipotireoza teladi poreklom od majki tretiranih sa PTU bila
21 uzrokovana ne samo mogućim efektom PTU na aktivnost tireoidne osovine
22 fetusa, već i smanjenim transferom tireoidnih hormona kroz placentu.
- 23 3. Kod teladi poreklom od tretiranih primiparnih majki utvrđena je kompenzatorna
24 hipertireoza u periodu od 4. do 6. dana neonatalnog života, koja se
25 manifestovala statistički značajno većom koncentracijom tireoidnih hormona
26 tokom 4., 5. i 6. dana neonatalnog života, kao i statistički značajno nižom
27 koncentracijom TSH 5. i 6. dana neonatalnog života u odnosu na telad
28 poreklom od netretiranih primiparnih majki.
- 29 4. Hipotireoza neonatalne teladi ogledne grupe je bila udružena sa nepovoljnim
30 energetskim statusom novorođenih jedinki, koji se ogledao u značajno nižoj
31 koncentraciji glukoze i insulina tokom prva 2 dana neonatalnog života, i
32 značajno višoj koncentraciji kortizola tokom prvih 7 dana neonatalnog života u
33 odnosu na telad poreklom od netretiranih primiparnih majki.
- 34 5. Hipotireoza neonatalne teladi ogledne grupe bila je udružena sa usporenim
35 sazrevanjem IGF osovine tokom prve nedelje neonatalnog života, s obzirom da
36 su koncentracija IGF-I i relativna zastupljenost IGFBP-2 i IGFBP-3 kod njih bile
37 značajno niže u odnosu na telad poreklom od netretiranih primiparnih majki, sve
38 do 7. dana života, kada su se koncentracije kod obe grupe teladi izjednačile.
- 39 6. Resorpcija imunoglobulina iz kolostruma kod teladi ogledne grupe je bila slabija,
40 što se manifestovalo nižom koncentracijom globulina u odnosu na telad
41 poreklom od netretiranih primiparnih majki u svim periodima ispitivanja, izuzev
42 0. dana neonatalnog života.
- 43 7. Rezultati dobijeni u ovoj disertaciji ukazuju na značaj tireoidnih hormona za
44 adekvatnu adaptaciju neonatalne teladi na ekstrauterine uslove života.

45 46 47 48 **VII OCENA NAČINA PRIKAZA I TUMAČENJA REZULTATA ISTRAŽIVANJA (navesti da li** 49 **su dobijeni rezultati u skladu sa postavljenim ciljem i zadacima istraživanja, kao i da li** 50 **zaključci proizilaze iz dobijenih rezultata):**

51
52 Rezultati istraživanja koje je u okviru izrade doktorske disertacije sproveo kandidat su
53 u potpunosti u skladu sa postavljenim ciljem i zadacima istraživanja. Dobijeni rezultati su
54 prikazani tabelarno, grafički i uz pomoć slika, a njihov opis je dat logičnim redosledom,
55 pregledno, jasnim i razumljivim stilom. Izvedeni zaključci su jasno formulisani i u skladu su sa
56 postavljenim ciljem i dobijenim rezultatima istraživanja.

1 **VIII KONAČNA OCENA DOKTORSKE DISERTACIJE:**

2
3 **1. Da li je disertacija napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme?**

4 Doktorska disertacija kandidata Petra Dodovskog pod naslovom "Hormonalni i
5 metabolički status teladi neonatalnog perioda poreklom od primiparnih majki tretiranih sa
6 propiltiouracilom tokom graviditeta" je napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u
7 prijavi teme.

8 **2. Da li disertacija sadrži sve elemente propisane za završenu doktorsku disertaciju?**

9 Doktorska disertacija kandidata Petra Dodovskog pod naslovom "Hormonalni i
10 metabolički status teladi neonatalnog perioda poreklom od primiparnih majki tretiranih sa
11 propiltiouracilom tokom graviditeta" sadrži sve bitne elemente u skladu sa zahtevima za
12 završenu doktorsku disertaciju.

13 **3. Po čemu je disertacija originalan doprinos nauci?**

14 Ovo je, prema našim saznanjima iz dostupne literature, prvo istraživanje
15 hormonalnog i metaboličkog statusa neonatalne teladi kod kojih je hipotireoza indukovana
16 posredno, tretiranjem njihovih majki tokom graviditeta sa propiltiouracilom. Neonatalni period
17 je period života u kome fiziološki dolazi do značajnih promena u koncentraciji tireoidnih
18 hormona koje omogućavaju pravilnu adaptaciju na ekstrauterine uslove života, a sam
19 mehanizam ove adaptacije se može preciznije razjasniti moduliranjem aktivnosti tireoidne
20 osovine u tom periodu života. U ovoj disertaciji dokazan je značaj tireoidnih hormona u ranom
21 neonatalnom periodu na uspostavljanje homeostatskih mehanizama unutar energetskog i
22 proteinskog metabolizma, kao i značaj tireoidnih hormona za maturaciju IGF sistema
23 značajnog za postnatalni rast i razvoj teleta.

24
25 **IX PREDLOG:**

26
27 **Na osnovu ukupne ocene disertacije, komisija predlaže (odabrati jednu od tri**
28 **ponuđenih mogućnosti):**

- 29
30 - da se doktorska disertacija prihvati a kandidatu odobri odbrana

31
32
33 DATUM
34 10. 12.2015.

POTPISI ČLANOVA KOMISIJE

35
36
37 -----
38 1. **dr Danijela Kirovski**, vanredni profesor, Fakultet veterinarske medicine
39 Univerziteta u Beogradu

40
41 -----
42 2. **dr Ožbalt Podpečan**, docent, Veterinarski fakultet Univerziteta u Ljubljani

43
44 -----
45 3. **dr Milutin Đorđević**, vanredni profesor, Fakultet veterinarske medicine
46 Univerziteta u Beogradu

47
48 -----
49 4. **dr Ivan Vujanac**, docent, Fakultet veterinarske medicine
50 Univerziteta u Beogradu

51
52 -----
53
54 5. **dr Đorđe Savić**, docent, Poljoprivredni fakultet Univerziteta Banja Luka